

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

Stoffwechseluntersuchungen nach Dauerinfusionen
von Glucose, Fructose und Xylit
unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens
der Seruminsulinspiegel

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Günther Zimmermann
aus Hengersberg

München 1970

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr. H. Mehnert

Korreferent: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22. 12. 1970



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	2
II. Untersuchungsgut und Methodik	4
1. Methodisches Vorgehen bei den Infusionen	4
2. Methodik der Laboruntersuchungen	5
a) Die Bestimmung von Glucose und Fructose im Blut	5
b) Die Bestimmung von Glucose im Blut der nicht mit Fructose belasteten Probanden	7
c) Die Bestimmung von Xylit im Blut	8
d) Die Bestimmung des Seruminsulins	9
e) Die Bestimmung der freien Fettsäuren	15
f) Die Bestimmung des Glykogens im Blut	15
g) Die Bestimmung des Phosphats im Serum	16
III. Ergebnisse (Tabellen, Text, Abbildungen)	18
1. Ergebnisse der Glucose-Infusionen	18
2. Ergebnisse der Fructose-Infusionen	19
3. Ergebnisse der Xylit-Infusionen	20
4. Text: Beschreibung der Ergebnisse	21
5. Abbildungen	23
IV. Diskussion	26
V. Zusammenfassung	35
VI. Literaturverzeichnis	37

I. Einleitung

Durch die Erforschung neuer Substanzen und die Entwicklung moderner Labormethoden sind besonders auf dem Gebiet des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten in den letzten Jahren große Fortschritte zu verzeichnen gewesen. Von besonderer Bedeutung ist dabei die Entwicklung brauchbarer Methoden zur Insulin-Bestimmung, die als immunologische Bestimmungsmethoden den früher verwendeten biologischen Tests in Hinsicht auf Spezifität und Aussagekraft weit überlegen sind. So wurde es möglich, das Verhalten des Organismus unter der Zufuhr bestimmter Nährstoffe oder Metabolite zu prüfen und darüber hinaus die Abhängigkeit anderer Stoffwechselreaktionen von der Menge des ausgeschütteten Insulins zu kontrollieren. Die ebenfalls neu entwickelten Methoden zur Bestimmung der freien Fettsäuren, des Phosphats und des Glykogens können im Zusammenwirken mit spezifischen enzymatischen Bestimmungen der Blutglucose interessante Aspekte bei Untersuchungen des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels gewinnen lassen.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit soll sein, unter Einsatz der erwähnten Methoden das Verhalten des Stoffwechsels junger gesunder Versuchspersonen unter parenteraler Langzeitverabreichung von Glucose, Fructose und Xylit zu überprüfen. Das Interesse an Ergebnissen über den Glucosestoffwechsel ist durch die Tatsache begründet, daß es sich hierbei um den wichtigsten physiologischen Zucker handelt. Auch wenn über seine Verwertung zahllose Arbeiten vorliegen, muß bei einer Belastung des Stoffwechsels mit anderen Kohlenhydraten stets ein Vergleich mit Glucose vorgenommen werden.

Die Untersuchungen mit Fructose und Xylit waren wegen der insulin-unabhängigen Verwertung dieser Substanzen von Interesse. Es galt festzustellen, ob wie von den meisten Autoren angenommen wurde - Fructoseinfusionen keine Steigerung der Insulinsekretion bewirken, und inwieweit sich dabei das Verhalten der freien Fettsäuren, des Glykogens und des anorganischen Phosphats von dem während einer Glucoseinfusion unterscheiden würde.

Das Wissen um die ebenfalls insulin-unabhängige Verwertung des Zuckeralkohols Xylit, der vor einigen Jahren als Intermediärprodukt des Glucuronsäure-Xylulose-Zyklus entdeckt wurde, regte zu den gleichen Untersuchungen mit Xylit an. Über diese Substanz gibt es eine Reihe von Mitteilungen, die eine Steigerung der Insulinsekretion nahelegen. Deswegen war neben der Prüfung der Seruminsulinwerte auch eine Beurteilung der von dieser Größe abhängigen anderen Metabolite (insbesondere Glucose und freie Fettsäuren) von Wichtigkeit.

II. Untersuchungsgut und Methodik

1. Methodisches Vorgehen bei den Infusionen

An drei Gruppen junger Versuchspersonen (Durchschnittsalter 25 Jahre) wurden Infusionen mit Lösungen verschiedener Kohlenhydrate vorgenommen. Es wurde jeweils 1 g/kg Körpergewicht über den Zeitraum von einer Stunde infundiert.

Gruppe 1: Glucoseinfusionen bei 12 Versuchspersonen

Gruppe 2: Fructoseinfusionen bei acht bzw. neun Versuchspersonen

Gruppe 3: Xylitinfusionen bei acht Versuchspersonen

Die Infusionen wurden morgens 8 Uhr - nach zwölfstündigen Fasten der Probanden - angelegt. Während der ganzen Infusionsdauer befanden sich die Versuchspersonen in Ruhe.

Zunächst wurde im Nüchternzustand unmittelbar vor Infusionsbeginn, dann nach 5, 10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minuten Blut aus der gestauten Kubitalvene entnommen.

Es sollten nun die durch die Infusion hervorgerufenen Stoffwechseleränderungen zu den einzelnen Zeitpunkten der Blutentnahme gemessen werden, wobei folgende Parameter bestimmt wurden:

- a) Glucose nach 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 Minuten
- b) Fructose nach 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 Minuten
- c) Xylit nach 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 Minuten
- d) Seruminsulin nach 0, 5, 10, 20, 40, 60 Minuten
- e) freie Fettsäuren nach 0, 5, 10, 20, 40, 60 Minuten
- f) Glykogen nach 0, 10, 30, 40, 50, 60 Minuten
- g) Phosphat nach 0, 10, 30, 50, 60 Minuten.

Die für die Glucose- und Fructosemessungen bestimmten Blutproben (jeweils 0,1 ml) wurden sofort enteiweißt, wie im einzelnen noch bei der Beschreibung der Bestimmungsverfahren auszuführen ist. Für die Xylitbestimmung wurden jeweils

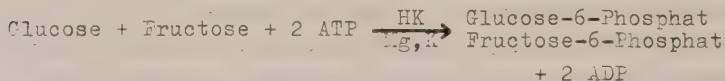
0,25 ml und für das Glykogen 5 ml verwendet. Vom Rest wurde Serum abzentrifugiert. Je ein ml davon diente zur Ermittlung der Konzentrationen des Seruminsulins, der freien Fettsäuren und des anorganischen Phosphats. Die FFS wurden noch am selben Tag bestimmt, während das Serum für den Insulintest bei einer Temperatur von -20°C eingefroren wurde.

2. Methodik der Laboruntersuchungen

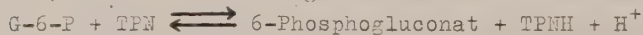
a) Die Bestimmung von Glucose und Fructose im Blut

1) Chemisches Prinzip

Dieser Methode liegen Angaben von Slein G.T., Cori G.F. und Cori G.F. zugrunde (52), die zum Nachweis der Fructose nach Schmidt (50) erweitert wurden (Boehringer-Testverfahren). Die Bestimmung geschieht in der Weise, daß nach Zugabe von Hexokinase (HK) sowohl Glucose als auch Fructose in Gegenwart von ATP phosphoryliert wird.

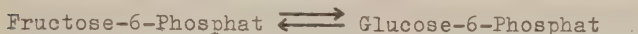


In Gegenwart von Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) läuft alsdann folgende Reaktion ab:



TPNH ist in diesem System Meßgröße und aufgrund seiner Absorption bei 340 bzw. 366 nm leicht zu bestimmen. Die in der Testflüssigkeit (0,1 ml Blut mit 1ml 3,5%iger Perchlorsäure enteiweißt) gleichzeitig vorhandene Fructose wird durch ATP in Fructose-6-Phosphat übergeführt. Nach Ablauf der mit Hexokinase und Glucose-6-Phosphatdehydrogenase gestarteten Bestimmung der Glucose, die gegebenenfalls noch extrapoliert werden muß (weil die G-6-PDH mit Spuren von Phosphoglucoseisomerase (PGI) verunreinigt ist, das bereits jetzt in geringem Maße die

im folgenden beschriebene Reaktion in Gang bringt), wird durch Zugabe von Phosphoglucisomerase in einem zweiten Enzymschritt folgende Reaktion gestartet:



Das in der Untersuchungslösung vorhandene Fru-6-P wird also ebenfalls unter Freisetzung von TPN über Glu-6-P in 6-Phosphogluconat übergeführt. Das TPN wird wiederum über seine Absorption bestimmt.

Da beide Reaktionen exakt stöchiometrisch verlaufen, läßt sich so aus den erhaltenen Extinktionsdifferenzen ohne weiteres die Glucose- und Fructosemenge berechnen.

2) Reagentien

1. Triäthanolaminpuffer

Triäthanolaminhydrochlorid

Natriumcarbonat

Magnesiumsulfat

2. Triphosphopyridinnucleotid (TPN⁺)

3. Adenosintriphosphat (ATP)

4. Hexokinase (HK)

5. Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH)

6. Phosphoglucoseisomerase (PGI)

7. 3,6%ige Perchlorsäure.

3) Arbeitsgang

In ein Zentrifugenglas gibt man 0,1 ml Blut und pipettiert 1 ml 3,6%ige Perchlorsäure zum Zweck der Enteiweißung dazu. Anschließend wird fünf bis zehn Minuten bei 300 U/min zentrifugiert. Vom Überstand werden 0,2 ml zum Test verwendet:

In eine 10-ml-Küvette pipettiert man nacheinander:

2,6 ml Puffer,

0,20 ml Probe (Überstand nach Enteiweißung),

0,10 ml TPN,

0,10 ml ATP.

Nach Durchmischung wird im Photometer bei 366 nm der Leerwert abgelesen. Nun werden 0,02 ml HK/G-6-PDH eingemischt. Nach 10-minütigem Stehenlassen bei Raumtemperatur wird dann erneut die Extinktion gemessen. Anschließend werden noch mehrere Ablesungen in Abständen von zwei Minuten auf die Zeit der Zugabe von HK/G-6-PDH extrapoliert. Die Differenz der so erhaltenen Extinktion gegen den Leerwert geht in die Berechnung der in der Probe enthaltenen Glucosemenge ein.

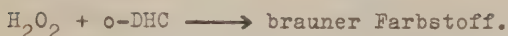
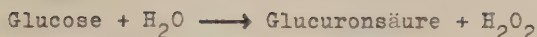
Zur Bestimmung der Fructose versetzt man unmittelbar darauf das Gemisch mit 0,02 ml PGI und bestimmt nach einiger Zeit abermals die Extinktion bei 366 nm. Dabei muß man unbedingt abwarten, bis die Reaktion völlig zum Stillstand gekommen ist. Die Berechnung der in der Probe enthaltenen Fructosemenge erfolgt aus der Differenz der am Schluß gemessenen Extinktion gegen die Extinktion, die vor Zugabe von PGI ermittelt wurde. Die Umrechnung der Extinktionsdifferenzen auf die Glucose- bzw. Fructosemengen im Blut erfolgt mit dem Faktor 893,5 (für die Messung bei 366 nm).

Extinktionsdifferenz $\cdot$ 893,5 = mg% Glucose bzw. Fructose im Blut.

b) Die Bestimmung von Glucose im Blut der nicht mit Fructose belasteten Probanden

1) Chemisches Prinzip

Dieser Glucosenachweis basiert auf einem von Keilin und Hartree entwickelten Verfahren (Boehringer-Testverfahren) in der Modifikation von Huggett und Nixon (24). Dabei wird durch die Glucoseoxydase Glucose zu Glucuronsäure oxydiert. Das entstehende Wasserstoffperoxyd oxydiert dann o-Dianisidinhydrochlorid in Anwesenheit von Peroxydase zu einem braunen Farbstoff.



Die Konzentration dieses Farbstoffs wird im Eppendorf-Photometer bei 463 nm bestimmt. Verglichen mit dem Leerwert stellt der abgelesene Wert ein Maß für die Glucosekonzentration in der Probe dar.

2) Reagentien

1. Glucoseoxydase
2. o-Dianisidinhydrochlorid
3. Peroxydase
4. 5,6 %ige Perchlorsäure

3) Arbeitsgang

Die Blutproben werden unmittelbar nach der Entnahme aus der Kubitalvene mit 2 ml 3,6 %iger Perchlorsäure enteiweißt und zentrifugiert (10 min bei 3000 U/min). Vom Überstand werden 0,5 ml entnommen und mit 5,0 ml Glucose-reagens versetzt. Nach 35 Minuten wird am Photometer abgelesen.

c) Die Bestimmung von Xylit im Blut nach C.D.West und Rapoport (57)

1) Reagentien

1. Zinksulfat- und Bariumhydroxydgemisch 1:1
2. Kaliumperjodat p.a.
3. Zinkchloridlösung
4. Chromotropsäure
5. konz. Schwefelsäure

2) Methode

Zum Enteiweißen des Blutes dient das Gemisch aus ZnSO_4 und Ba(OH)_2 im Verhältnis 1:1. 4,75 ml dieses Gemisches werden mit 0,25 ml Blut versetzt. Das neu entstandene Gemisch wird anschließend 10 Minuten zentrifugiert. Dann werden vom Überstand 2 ml zur Untersuchung entnommen. Als Leerwert nimmt man 2 ml Wasser, das man der

gleichen Prüfung unterzieht. Als nächstes gibt man zu beiden Proben 0,5 ml Kaliumperjodat p.a. und läßt nach gutem Vermischen beide Proben 8 min stehen. Alsdann fügt man 0,5 ml einer Zinkchloridlösung hinzu und stellt das so erhaltene Gemisch in ein Wasserbad. Jedem Glas werden nun 5 ml Chromotropsäure beigegeben. Im Anschluß daran stellt man die Proben erneut 30 min ins Wasserbad. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur gibt man noch 10 ml konzentrierte Schwefelsäure hinzu. Die weitere Bestimmung des Xylits erfolgt auf Grund einer Absorptionsmessung mit dem Eppendorf-Photometer.

d) Die Bestimmung des Seruminsulins (Immunologische Insulinbestimmung mit J-125-Insulin)

1) Prinzip der Methode

Diese Methode erlaubt die Messung kleinster Insulinkonzentrationen im Blut. Sie beruht auf kompetitiver Hemmung der Bindung von J-125-Insulin an Insulin-Antikörper durch das in der zu testenden Probe enthaltene Insulin. Die Menge des an den Insulin-Antikörper gebundenen J-125-Insulins verhält sich deshalb umgekehrt proportional zur Insulinkonzentration in der Probe. Auf der Grundlage dieses Prinzips sind mehrere Methoden entwickelt worden, die sich aber lediglich im Trennungsmodus von antikörpergebundenem und freiem Insulin unterscheiden. (17,36,19,41,62)

Unsere Arbeitsweise richtet sich dabei nach den von Hales und Randle (19) veröffentlichten Richtlinien. Bei diesem Verfahren wird der Insulin-Insulinantikörper-Komplex durch einen zweiten Antikörper aus der Lösung gefällt. Das Präzipitat wird durch Filtration von dem freibleibenden Insulin getrennt und seine Radioaktivität gemessen. Die Insulinkonzentration einer unbekannten Probe wird an einer mit bekannten Insulinkonzentrationen aufgestellten Eichkurve abgelesen.

2) Reagentien

1. Insulin-Bindungs-Reagens

Der Insulin-bindende Antikörper wird durch Immunisierung von Meerschweinchen- mit Schweine-Insulin gewonnen, der präzipitierende durch Immunisierung von Kaninchen- mit Meerschweinchenglobulin. Nach Einstellen des Antikörpertiters wird das Serum mit EDTA-haltigem Puffer verdünnt und mit einer entsprechenden Menge von präzipitierendem Anti-Meerschweinchenserum versetzt. Nach einer Reaktionszeit des Gemisches von 18 Stunden bei 4°C wird dieses gefriergetrocknet. Nach Wiederauflösen in einem Volumen von 8 ml enthält jedes Fläschchen Meerschweinchenserum-Präzipitat in einer Verdünnung von 1:16000 und 0,03mol EDTA in Puffer A. In dieser Form kann das Reagens ca. 40% der Standarddosis von 250 μ g 125-Jodinsulin binden.

2. 125-Jod-Insulin

Das 125-Jodinsulin wird aus speziell gereinigtem kristallinem Rinderinsulin durch Jodierung mit Jodmonochlorid hergestellt. (Burroughs u. Co; 1 mg entspricht 24,3 IE)

Herstellung der Arbeitslösung:

0,1 ml des 125-Jodinsulins werden aus der Ampulle mit einer 100 ml-Eppendorf-Pipette entnommen und mit 3,9 ml Puffer A gemischt. 0,1 ml dieser Lösung enthalten nun 250 μ g 125-Jodinsulin.

3. Deionisiertes Wasser

4. Puffer A

Der Puffer A wird zur Verdünnung des Antiserums und des 125-Jodinsulins benötigt und enthält:

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$6,2 g

Natriumäthylmercurithiosalicylat (Thiomersalat).0,25g

Rinderalbuminpulver, reinst....1,0 g

Deionisiertes Wasser....ad 1000,0 ml

Der Puffer wird mit einigen Tropfen 2n NaOH auf pH 7,4 eingestellt und bei 2 bis 4°C aufbewahrt.

5. Puffer B

Der Puffer dient zur Verdünnung des Insulinstandards und der Serumproben

NaCl.....9,0 g

Puffer A.....ad 1000,0 ml

Aufbewahren bei 2 bis 4°C

6. Puffer C

4 %iger Albuminpuffer zur Waschung des Antikörperpräzipitats.

7. Insulinstandardlösungen

Lösung I (200 µg/ml)

Um die Kondensation von Wasserdampf auf dem kalten kristallinen Protein zu vermeiden, läßt man das Insulin sich in seinem Behälter auf Raumtemperatur erwärmen. 2 mg werden in ein Röhrchen abgewogen und 1 ml 0,03 mol HCl hinzugefügt. Nach vollständiger Lösung des Insulins in deionisiertem Wasser wird es in ein 10 ml-Meßkölbchen hinübergespült und bis zur Marke aufgefüllt. Es wird gut gemischt und mit einer Mikroliterpipette werden je 0,1 ml in verschließbare Röhrchen verteilt. Die Aufbewahrung erfolgt bei -10°C bis -20°C. Ein Röhrchen davon dient zur Herstellung der Lösung II. Einen Teil der restlichen Lösung verwahrt man bei -10 bis -20°C als Standardlösung für spätere Ansätze.

Lösung II (2 µg/ml)

Man füllt eines der Röhrchen mit 0,1 ml der Lösung I mit ungefähr 2 ml Puffer B auf, mischt gut, überführt quantitativ mit Puffer B in einen Meßkolben, füllt auf 10 ml auf und mischt nochmals gut durch.

Lösung III

Lösung III ist erst unmittelbar vor ihrer Verwendung anzusetzen. Zunächst wird eine Standardlösung mit einer Konzentration von 20 µg/ml Insulin (Standard Nr.6 in nachfolgend aufgeführter Tabelle) hergestellt, indem 0,5 ml der Lösung II mit Puffer B auf 50,0 ml aufge-

füllt werden. Davon bereitet man nach dem in der Tabelle angegebenen Schema die weiteren Insulin-Standardlösungen (Nr.1-5)

Standard Nr.	Lösung III ml	Puffer B ml	Endgültige m/ug/ml	Insulinkonz. /uE/ml
1	0,2	9,8	0,4	10
2	0,2	4,8	0,8	20
3	0,2	1,8	2,0	50
4	1,0	4,0	4,0	100
5	1,0	1,0	8,0	200
6.	ungelöst	-	20,0	500

8. Szintillatorflüssigkeit

Äthylalkohol	 150 ml
Dioxan	 300 ml
Naphthalin	 50 g
2,5-Diphenoloxazol (POP).....	5 g
Toluol	...ad 1000 ml

Die Szintillatorflüssigkeit wird stets in einer braunen Flasche verwahrt.

3) Arbeitsweise

Vor einem Ansatz muß man folgende Proben zur Messung vorbereiten: (a) Insulinstandardlösungen,

(b) Unbekannte Insulinproben,

(c) 0-Werte, denen anstelle unmarkierten Insulins Puffer B zugegeben ist,

(d) Waschkontrollen, denen statt des Insulin-Bindungs-Reagens Puffer A zugesetzt wird.

1. Auflösung des Insulin-Bindungs-Reagens

Zu einem Fläschchen IBR werden 8 ml deionisiertes Wasser gegeben. Es wird vorsichtig gemischt, um Schaumbildung zu vermeiden. Mit einer Mikroliterspritze werden je 0,1 ml in die Reaktionsgefäße des Testansatzes verteilt (ausgenommen Waschkontrollen).

Um eine laufende Kontrolle und einen Vergleich zwischen den einzelnen Testansätzen zu ermöglichen, läuft bei

jedem Testansatz ein Serum mit, von dem eine genügende Menge in kleinen Portionen tiefgefroren vorrätig gehalten wird. Jede Bestimmung wird dreifach durchgeführt, um möglichst verlässliche Werte zu erzielen.

2. Zugabe des unmarkierten Insulins

Mit einer Mikroliterspritze werden nun 0,1 ml des insulinhaltigen Teils des Testansatzes - Insulinstandardlösung oder unbekannte Probe - auf die Reaktionsgefäße verteilt bzw. Puffer B für die O-Werte. Nun werden alle Reaktionsgefäße in einem Mixgerät gut gemischt und dann für sechs Stunden in einem Kühlschrank bei 2-4°C aufbewahrt.

3. Zugabe des J-125-Insulins

Erneutes Mischen der Reaktionsgefäße, danach Zugabe von 0,1 ml der J-125-Insulin-Lösung; nochmals gut durchmischen und für weitere 18 Stunden bei 2-4°C verwahren. Um die jedem Reaktionsgefäß zugegebene Gesamtaktivität des J-125-Insulins zu bestimmen, wird in dieser Phase des Versuches die Radioaktivität von 0,1 ml der J-125-Insulin-Lösung mit dem zur Verfügung stehenden Meßsystem gemessen. Bei dem von uns verwendeten Flüssigkeits-Szintillationszähler von Packard werden 0,1 ml der J-125-Insulin-Lösung zusammen mit einer Menge von 10 ml Szintillator-Flüssigkeit in ein Zählgefäß gegeben.

4. Filtration

Die Gewinnung der Präzipitate aus den Reaktionsgefäßen erfolgt über Mikrofiltration des Inhaltes durch Zelloseacetat-Filter. Die Filter werden auf einen Millipore-Filterträger gelegt, der auf einer Vacuumflasche befestigt ist. Jeder einzelne für den Versuch benötigte Filter wird auf die Oberfläche einer mit Puffer C gefüllten Schale gelegt. Innerhalb von 10 bis 20 Sekunden haben sich die Filter vollgesogen; sie bleiben bis zur Verwendung in der Pufferlösung liegen. Spülen des Filterträgers und Beschickung mit dem ersten Filter.

Die Reaktionsgefäße des Testansatzes müssen bis kurz vor der Filtration entweder in einem Kühlschrank oder einem Eisbad kalt gehalten werden. Ebenso muß der zur Waschung benutzte Puffer C während der Filtration behandelt werden.

5. Radioaktivitätsmessung mit dem Flüssigkeits-Szintillationszähler

Die Filter werden in die leeren Zählgefäße übergeführt und darin 10 Minuten lang bei 120°C getrocknet. Bevor die Szintillator-Flüssigkeit eingefüllt wird, löst man eventuell an der Glaswand haftende Filter. Daneben gibt man einen sauberen Filter zur Feststellung des Nulleffekts (background) und 0,1 ml J-125-Insulin zur Bestimmung der Gesamtaktivität in je ein Zählgefäß.

6. Berechnung der Ergebnisse

a. Zählrate pro Minute, Subtraktion des Nulleffekts und Errechnung des Mittelwertes aus der Dreifachbestimmung. Ein gut gelungener Versuch erfüllt folgende Kriterien:

- (1) Gute Übereinstimmung der mehrfachen Bestimmungen einer einzelnen Probe,
- (2) Die Kontrollen ohne Insulin-Bindungs-Reagens weisen bei ausreichender Waschung eine weniger als 5 % der Gesamtaktivität betragenden Zählrate auf,
- (3) Die 0-Werte liegen bei 30 - 50 % der Gesamtaktivität. Dieser Wert ist vom Titer und der Verdünnung des Antiserums abhängig.

b. In ein Koordinatensystem werden für jede der Standard-Insulinkonzentrationen, die auf der X-Achse eingetragen werden, die diesen Werten entsprechenden, bei der Radioaktivitätsmessung gezählten Impulse eingetragen. Die Konzentrationen der unbekannten Proben können nun an der durch die Meßpunkte festgelegten Eichkurve abgelesen werden.

e) Die Bestimmung der freien Fettsäuren, modifiziert nach Duncombe(6,46)

1 ml Serum wird mit 3 ml aqua dest. und 4 ml Chloroform in ein Zentrifugenglas gegeben, das mit einem Schliffstopfen verschlossen werden kann und 5 Minuten mit einer Schüttelmaschine intensiv geschüttelt. Zur vollständigen Trennung der beiden Phasen wird 5 Minuten zentrifugiert, der wässrige Überstand mit einer Pipette, die an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen ist, abgesaugt. Von der unteren Phase wird 1 ml abpipettiert und in ein sauberes, trockenes Schliffzentrifugenglas gegeben und mit Chloroform auf 5 ml aufgefüllt. Nach Hinzugabe von 2,5 ml Kupfer-Reagens (neun Teile wässrige 1 mol Triäthanolaminlösung, ein Teil 1 n Essigsäure und zehn Teile 0,45 %ige $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ -Lösung) wurde wieder intensiv 5 Minuten geschüttelt. anschließend wurde die obere Phase nach vorheriger vollständiger Trennung der beiden Phasen verworfen. Von der unteren Phase wurden 3 ml in ein sauberes Röhrchen abpipettiert. Dazu wurden 0,5 ml des Diäthylldithiocarbaminat-Reagens gegeben. (0,1 %ige Natriumdiäthylldithiocarbaminat-Lösung in Butanol-2-redest.) Bei Anwesenheit eines Kupfer-Fettsäure-Komplexes ergeben sich nach kräftigem Durchmischen je nach Konzentration verschiedene Farbtintensitäten, die am Eppendorf-Photometer in einer 2-cm³-Küvette bei 436 nm abgelesen werden. Die so erhaltenen Werte werden mit einem Standard, bestehend aus Palmitin-, Stearin- und Oleinsäure verglichen.

f) Die Bestimmung des Glykogens im Blut, nach Förster, Mehnert und Schindera (10,49)

5 ml Blut werden mit 5,0 ml 49%iger Kalilauge in ein großes Zentrifugenglas gegeben (25 ml). Nach kräftigem Durchmischen wird 60 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt. Man läßt abkühlen und füllt das Glykogen mit 13 ml absolutem Alkohol aus. Zu diesem Zweck bleibt

die Probe 24 bis 32 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Dann zentrifugiert man (45 min bei 6000 U/min). Der Niederschlag wird mit 0,5 ml 2n Salzsäure aufgenommen. Zur Hydrolyse erhitzt man 1 Stunde im kochenden Wasserbad, worauf man die Proben wieder auf 20°C abkühlen läßt und jeweils in einem 10-ml-Kölbchen mit 2n NaOH neutralisiert und mit aqua dest. zur Marke auffüllt. Die durch Hydrolyse freigesetzte Glucose wird anschließend enzymatisch mit Glucoseoxydase/Peroxydase bestimmt. Dazu werden 2,0 ml des Hydrolysates mit 10 ml Puffer-Enzym-Gemisch Chromogen versetzt. Die Eigenfarbe der Hydrolysatlösung wird im Parallelansatz beim gleichen Filter mit 2,0 ml Hydrolysat und 10 ml Puffer-Enzymgemisch ohne Chromogen gegen aqua dest. bestimmt und abgezogen. Mit diesem Ansatz läßt sich die Eigenfärbung völlig ausschalten, da die gleichen Bedingungen vorliegen wie bei der eigentlichen Bestimmung. Diese Messung ist unbedingt erforderlich, da die Extinktionsdifferenzen für die Eigenfärbung teilweise höher liegen als die Extinktionen für das Glykogen. Die ohne Substrat als Leerextinktionen gemessenen Glykogenwerte betragen also in diesen Fällen mehr als das Doppelte der eigentlichen Glykogenkonzentration. Ein mit Glykogen p.a. (Merck) angesetzter Eichwert wurde jeweils mitbestimmt. Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

3) Die Bestimmung des Phosphats im Serum, nach Brock und Mitarb.(4), modifiziert nach Haury (20).

1.Prinzip: Ammoniummolybdat bildet mit dem anorganischen Phosphor des Serums Ammoniumdodecamolybdatphosphat, das durch Hydrochinon zu einem blauen Komplex uneinheitlicher und bis heute nicht ganz aufgeklärter Struktur reduziert wird. Das zugesetzte Pyrosulfit verhindert die Bildung ebenfalls blauer Molybdänoxyde. Durch Carbonatzusatz wird die Reduktionsreaktion auf der gewünschten Stufe unterbrochen und das Eiweiß wieder gelöst. Der

Sulfitzusatz verhindert die Bildung von Chinon, die sich durch störende grüne Farbe bemerkbar machen würde.

2. Reagentien

1. Natriumpyrosulfitlösung 20 ml
2. Ammoniummolybdatlösung 20 ml
3. Reduktionsmittel in Kapseln (4 Kapseln à 100 mg)
4. Natriumcarbonat-Natriumsulfitlösung 100 ml
5. Phosphor-Standard 5 mg/100 ml 10 ml
6. Trichloressigsäure 10%ig.

3. Arbeitsweise: Die Reagentien werden nach folgendem Schema zusammengegeben:

	Analyse ml	Standard ml	Leerwert ml
Trichloressigsäure	2,0	2,0	1,0
Serum	0,2	-	-
Standard	-	0,2	-
zentrifugieren oder filtrieren Von jedem Ansatz wird weiter verwendet			
Zentrifugat oder Filtrat bzw. Mischung	1,0	1,0	1,0
Reduktionslösung	0,2	0,2	0,2
Ammoniummolybdatlösung	0,2	0,2	0,2
Karbonat-Sulfit-Lösung	1,0	1,0	1,0

Nach mindestens 10, höchstens 90 Minuten wird gegen den Leerwert bei 560 bis 600 nm gemessen.

4. Berechnung:

$\frac{\text{Extinktion Analyse}}{\text{Extinktion Standard}} \cdot 5 = \text{mg/100 ml anorganischer Phosphor im Serum}$

III. Ergebnisse (Tabellen, Text und Abbildungen)

Vorbemerkung: Für die folgenden Tabellen gelten die nachstehenden Abkürzungen: x = Einzelwert, $\bar{x}$ = Mittelwert, $s_{\bar{x}}$ = mittlere Streuung, n = Zahl der Glieder, Σ = Summe der Einzelwerte, t = Zeit in Minuten.

Die mittlere Streuung wurde nach folgender Formel bestimmt:

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{(\sum x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

1) Ergebnisse der Glucose-Infusionen (1g/kg/h)

a. Bestimmung der Glucosekonzentrationen (mg%)

t	0	5	10	20	30	40	50	60
Σ	1021	1553	2074	2647	3186	2898	3263	2637
$\bar{x}$	12	12	12	12	12	11	12	11
$s_{\bar{x}}$	85	129	173	220	265	263	272	240
$s_{\bar{x}}$	3,03	7,74	11,06	12,17	17,24	15,78	14,46	18,62

b. Bestimmung der Insulinkonzentrationen (μ E/ml)

t	0	5	10	20	40	60
Σ	165	429	439	630	819	1247
$\bar{x}$	12	12	12	12	12	11
$s_{\bar{x}}$	14	36	37	53	66	113
$s_{\bar{x}}$	1,59	9,56	9,36	14,28	14,43	30,20

c. Bestimmung der Konzentrationen der freien Fettsäuren (μ val/l)

t	0	5	10	20	40	60
Σ	3,64	3,44	2,80	1,90	0,95	0,48
$\bar{x}$	12	12	12	12	11	10
$s_{\bar{x}}$	0,29	0,29	0,23	0,16	0,09	0,05
$s_{\bar{x}}$	0,036	0,033	0,024	0,018	0,009	0,007

d. Bestimmung der Glykogenkonzentrationen (mg%)

t	0	10	30	40	50	60
Σ	25,98	22,23	22,53	17,13	25,19	29,88
$\bar{x}$	19	9	10	7	11	11
$s_{\bar{x}}$	2,60	2,47	2,25	2,45	2,29	2,72
$s_{\bar{x}}$	0,34	0,23	0,19	0,34	0,19	0,22

e. Bestimmung der Phosphatkonzentrationen (mg%)

t	0	10	30	50	60
$\sum$	41,9	37,9	35,2	30,8	24,6
$\bar{n}$	12	12	12	12	11
$\bar{x}$	0,18	0,16	0,25	0,12	0,22
$s_{\bar{x}}$	3,5	3,1	2,9	2,6	2,2

2) Ergebnisse der Fructose-Infusionen (1g/kg/h)

a. Bestimmung der Fructose-Konzentrationen (mg%)

t	0	5	10	20	30	40	50	60
$\sum$	19,8	301,0	307,0	426,4	420,1	397,2	441,2	589,9
$\bar{n}$	6	8	8	8	8	7	7	8
$\bar{x}$	3,3	37,6	38,4	53,4	52,6	56,7	63,0	73,7
$s_{\bar{x}}$	0,71	8,07	4,72	5,47	4,94	6,04	7,11	9,51

b. Bestimmung der Glucose-Konzentrationen (mg%)

t	0	5	10	20	30	40	50	60
$\sum$	518	519	548	585	540	754	858	859
$\bar{n}$	9	9	9	9	9	8	9	9
$\bar{x}$	57,6	57,7	60,9	65,0	60,0	94,3	95,3	95,4
$s_{\bar{x}}$	1,94	3,12	2,87	3,94	5,42	4,59	4,58	4,14

c. Bestimmung der Insulin-Konzentrationen ($\mu\text{E}/\text{ml}$)

t	0	5	10	20	40	60
$\sum$	118	139	152	164	156	170
$\bar{n}$	9	9	9	9	9	7
$\bar{x}$	13,1	15,4	16,9	18,2	17,3	24,3
$s_{\bar{x}}$	1,77	1,18	1,37	2,2	3,2	5,0

d. Bestimmung der Konzentrationen der freien Fettsäuren (mval/l)

t	0	5	10	20	40	60
$\sum$	2,93	2,64	2,12	1,08	0,83	0,61
$\bar{n}$	9	9	9	8	7	8
$\bar{x}$	0,33	0,29	0,24	0,14	0,12	0,08
$s_{\bar{x}}$	0,046	0,049	0,042	0,023	0,033	0,012

e. Bestimmung der Glykogenkonzentrationen (mg%)

t	0	10	30	40	50	60
$\sum$	22,07	17,32	16,34	10,40	16,80	18,53
$\frac{\sum}{n}$	9	9	9	6	9	9
$\bar{x}$	2,45	1,92	1,82	1,73	1,87	2,06
$s_{\bar{x}}$	0,24	0,23	0,23	0,29	0,28	0,21

f. Bestimmung der Phosphatkonzentrationen (mg%)

t	0	10	30	50	60
$\sum$	30,2	26,0	23,0	20,2	17,4
$\frac{\sum}{n}$	9	9	9	9	8
$\bar{x}$	3,6	2,9	2,5	2,2	2,2
$s_{\bar{x}}$	0,21	0,22	0,22	0,22	0,22

3) Ergebnisse der Xylit-Infusionen (1g/kg/h)

a. Bestimmung der Xylitkonzentrationen (mg%)

t	5	10	20	30	40	50	60
$\sum$	157	246	356	451	504	528	581
$\frac{\sum}{n}$	7	8	8	8	8	8	8
$\bar{x}$	22	31	45	56	63	66	73
$s_{\bar{x}}$	3,83	2,20	4,47	5,51	6,66	7,40	5,13

b. Bestimmung der Glucosekonzentrationen (mg%)

t	0	5	10	20	30	40	50	60
$\sum$	737	684	773	786	803	792	775	783
$\frac{\sum}{n}$	8	7	8	8	8	8	8	8
$\bar{x}$	92	98	97	98	100	99	97	98
$s_{\bar{x}}$	4,60	2,04	1,77	4,30	4,94	4,34	5,21	5,81

c. Bestimmung der Insulinkonzentrationen (μ E/ml)

t	0	5	10	20	40	60
$\sum$	165	232	196	237	247	280
$\frac{\sum}{n}$	8	8	8	8	8	8
$\bar{x}$	20,6	29,0	24,5	29,6	31,0	35,0
$s_{\bar{x}}$	1,75	3,76	1,50	1,55	2,88	3,49

d. Bestimmung der Konzentrationen der freien Fettsäuren

t	0	5	10	20	40	60(mval/l)
$\sum$	2,46	2,13	2,06	1,55	0,93	0,68
$\frac{n}{x}$	8	8	8	8	8	7
$\bar{x}$	0,31	0,27	0,26	0,19	0,12	0,10
$s_{\bar{x}}$	0,034	0,030	0,038	0,034	0,026	0,020

e. Bestimmung der Glykogenkonzentrationen (mg%)

t	0	10	30	50	60
$\sum$	14,28	9,80	1,28	13,58	15,58
$\frac{n}{x}$	5	5	5	5	5
$\bar{x}$	2,86	1,96	2,56	2,73	3,12
$s_{\bar{x}}$	0,51	0,38	0,66	0,73	0,75

f. Bestimmung der Phosphatkonzentrationen (mg%)

t	0	10	30	50	60
$\sum$	26,1	21,8	16,5	14,2	11,9
$\frac{n}{x}$	8	8	8	8	8
$\bar{x}$	3,3	2,7	2,1	1,8	1,5
$s_{\bar{x}}$	0,22	0,19	0,21	0,21	0,14

4) Text: Beschreibung der Ergebnisse

a) Zu den Glucoseinfusionen:

Die Blutglucosewerte steigen in den ersten 30 Minuten der Glucoseinfusion von 85 mg% auf das Doppelte, um in den letzten 10 Minuten der Infusion wieder leicht abzusinken. Ganz erheblich ist die Zunahme des Seruminulins von 14 auf 113 μ E/ml. Das entspricht einer Steigerung um das Achtefache. Der rasche Abfall der freien Fettsäuren um ca. 82% verläuft ziemlich konstant. Die Schwankungen der Glykogenwerte sind nicht signifikant. Das Serumphosphat sinkt unter der Glucoseinfusion und reagiert besonders mit zweimaligem deutlichen Absinken um jeweils 0,4 mg% in den ersten und letzten zehn Minuten der Infusion.

b) Zu den Fructose-Infusionen:

Während der Fructose-Infusion läßt sich eine erhebliche Zunahme der Serumfructose in den ersten fünf Minuten um das Zehnfache verzeichnen. In den folgenden fünf Minuten steigt der Fructosespiegel geringfügig, um in den anschließenden zehn Minuten nochmals um 20 mg.% hinaufzugehen. Diese Erhöhung der Fructose verläuft synchron mit einer insignifikanten Erhöhung der Blutglucose. Ebenfalls nicht signifikant ist das Ansteigen des Seruminsulins von 13 auf 24 μ E/ml in 60 Minuten. Die freien Fettsäuren fallen signifikant in den ersten 20 Minuten auf 42%, und im weiteren Verlauf langsam auf 24 % des Ausgangswertes ab. Der insignifikante Abfall des Glykogens endet nach 40 Minuten; der anschließende Anstieg erfolgt gleichzeitig mit der Zunahme der Seruminsulinkonzentration. Die signifikante Verminderung der Phosphatbewegt sich in den selben Größenbereichen wie bei der Glucose-Infusion.

c) Zu den Xylit-Infusionen:

Im Verlauf der Xylit-Infusion steigt der Blutglucosespiegel kaum merklich an. Die kleinen Schwankungen sind statistisch nicht signifikant. Die Erhöhung des Insulins von 20,6 auf 35,0 μ E/ml zeigt mit Ausnahme einer kleinen Zacke bei zehn Minuten nahezu linearen Anstieg und ist nach 60 Minuten signifikant. Der signifikante Abfall der freien Fettsäuren und des Phosphats ist ähnlich dem bei Glucose- und Fructose-Infusion. Die Glykogenwerte weisen eine große Streuung auf und sind nicht signifikant voneinander unterschieden. Die Ursache für die große Streuung dürfte in der kleinen Zahl der Versuchspersonen zu sehen sein.

Abb. 1

Ergebnisse nach intravenösen Glucoseinfusionen (1g/kg Körpergewicht/60 min) bei 12 gesunden Versuchspersonen (Durchschnittsalter 25 Jahre).

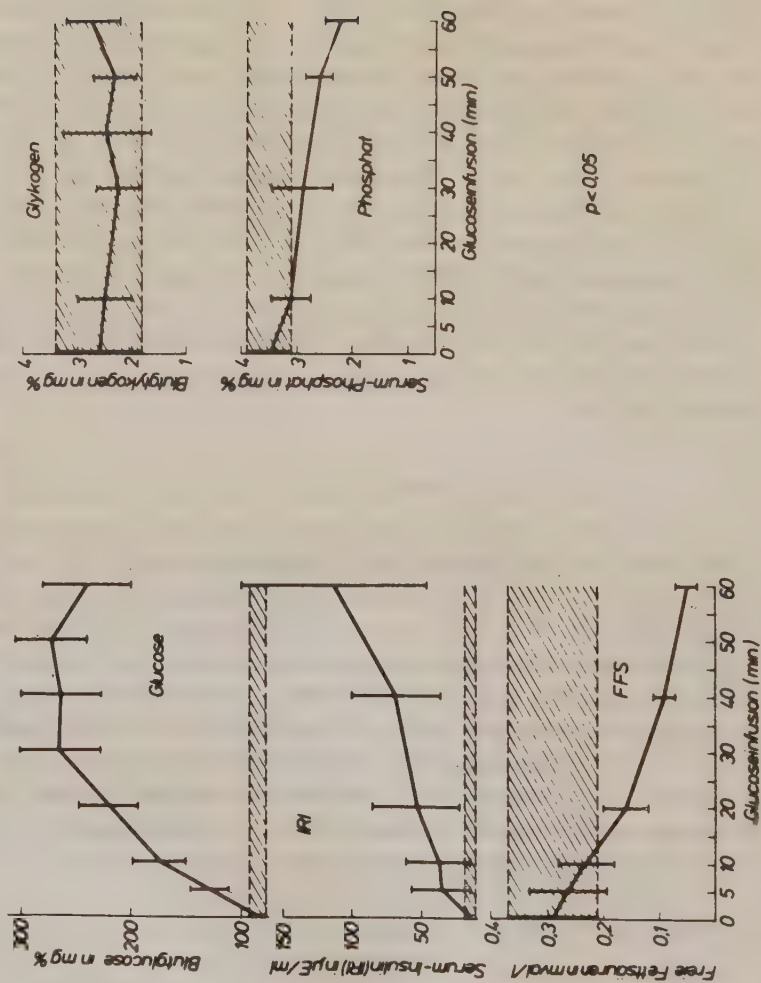


Abb. 2

Ergebnisse nach intravenösen Fructoseinfusionen (1 g/kg Körpergewicht/60 min) bei 9 gesunden Versuchspersonen (Durchschnittsalter: 25 Jahre).

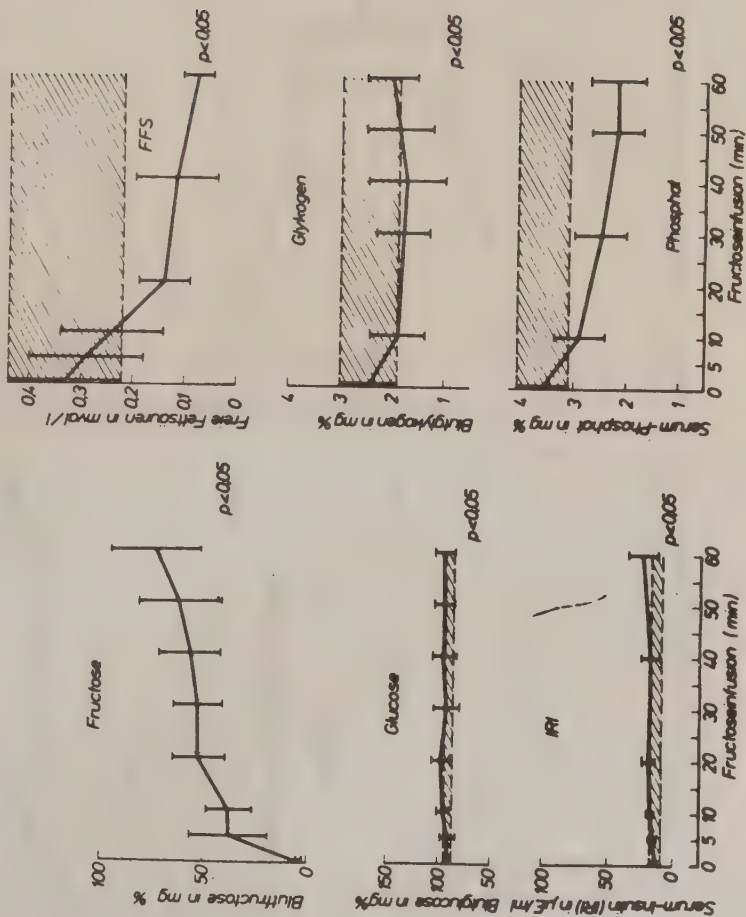
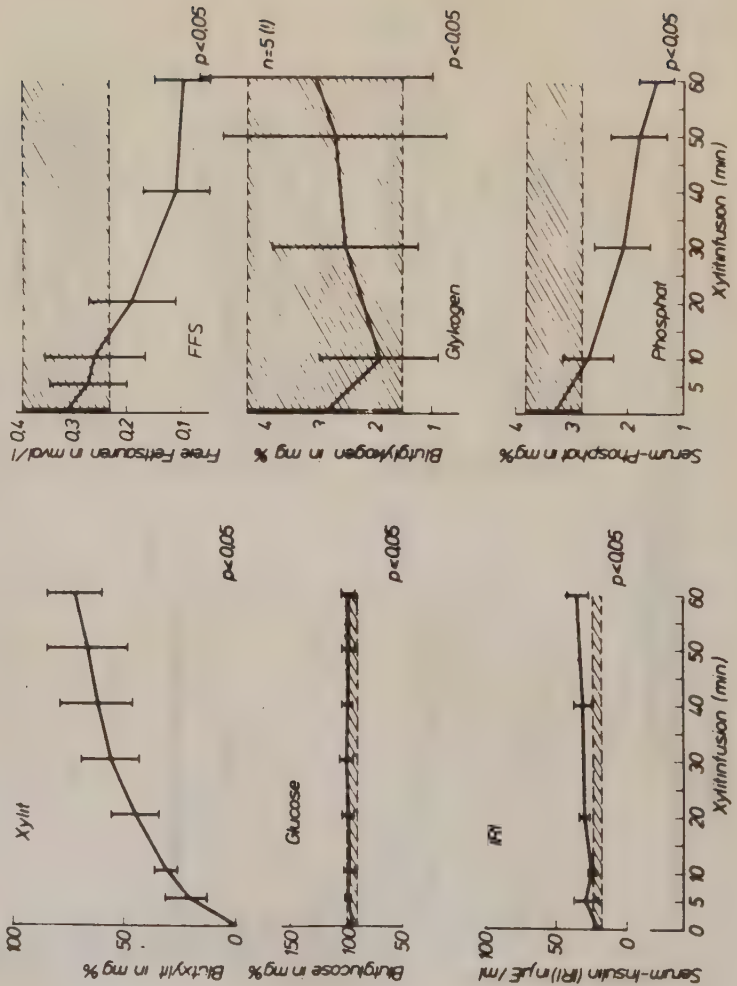


Abb. 3

Ergebnisse nach intravenösen Xylitinfusion (1g/kg Körpergewicht/60 min) bei 8 gesunden Versuchspersonen (Durchschnittsalter: 25 Jahre).



IV. Diskussion

1. Vorbemerkung

Die Erforschung der Wechselbeziehungen zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel bei langdauernden Zuckerinfusionen räumt dem von der Bauchspeicheldrüse produzierten Hormon Insulin eine zentrale Stellung ein. Mit der Entdeckung des Insulins und seiner hypoglykämischen Wirkung konnte natürlich auch die Frage nach der Steuerung seiner Sekretion nicht ausbleiben. Die bereits 1923 von Pollak (45) geäußerte Vermutung, der Blutzuckerspiegel selbst stelle den adäquaten Reiz für seine Konstanterhaltung dar, konnte vier Jahre später (14) bestätigt werden. Man fand, daß nur die Glucoseapplikation in die Pankreasarterie eine Hypoglykämie zur Folge hat, Zufuhr über die Arteria femoralis dagegen zum Anstieg der Blutzuckerkonzentration führt.

Bei unseren eigenen Versuchen wurden die Infusionen an der Kubitalvene vorgenommen. Es wurde - wie erwartet - ein Anstieg der Glucose- bzw. Fructose- und Xylitkonzentrationen beobachtet. Da aber außerdem die Konzentration des Seruminsulins und anderer Metabolite gemessen wurde, ist für uns die Frage interessant: Welche Veränderungen im Stoffwechsel sind eine direkte Folge des Zuckeranstiegs und welche sind Folge der reaktiv erhöhten Insulinkonzentration, falls eine solche beobachtet wurde?

Obwohl über das Insulin und die in unseren Versuchen verwendeten Zucker umfangreiche Literatur existiert, ist es für die vorliegende Fragestellung unerläßlich, auf einige neuere Erkenntnisse der Stoffwechselforschung hinzuweisen:

Insulin, das von den β -Zellen des Pankreas gebildet wird, ist ein Protein, dessen kleinste wirksame Einheit ein Molekulargewicht von rund 6000 aufweist. Je nach pH-Wert und Zink-Gehalt können zwei und mehr solcher Einheiten zu größeren (stabilen) Molekülen verbunden werden. Die Einheit besteht aus zwei Peptidketten, die durch zwei Disulfidbrücken verbunden sind, mit 21 bzw. 30 Aminosäuren. (Sanger) (47)

Die Disulfidbrücken bestimmen auch die räumliche Strukturierung des Insulins im Großen, während die detaillierte lokale Kettenformation durch H-Brückenbindung und Seitenketteneffekte bestimmt wird. (25) Für den Insulinabbau steht dem Organismus ein insulinabbauendes Enzymsystem zur Verfügung, das hauptsächlich in Leber und Plazenta lokalisiert ist; aber auch Niere, Milz, Muskel, Fettgewebe und Pankreas zeigen geringe insulinabbauende Aktivitäten. Dagegen ist mit dem Terminus 'Inaktivierung' lediglich gemeint, daß vordem aktives Insulin in einem biologischen System nicht zur Wirkung gekommen ist. Als Ursache einer Inaktivierung kommt zum Beispiel eine Adsorption an Plastik- oder Glasgefäße in Frage (16), eine Tatsache, die auch bei unseren Bestimmungsmethoden als unkorrigierbare Fehlerquelle in Betracht gezogen werden muß.

In allen Zellen des Säugetierorganismus ist die erste chemische Umwandlung, der sich das Glucosemolekül unterzieht, die Phosphorylierung zu Glucose-6-Phosphat. Diese Reaktion bedarf des ATP und wird entweder durch die Hexokinasen oder die noch spezifischere Glucokinase katalysiert. Die Menge und Aktivität dieser Enzyme ist zumeist mehr als ausreichend, um den Glucoseeinstrom in das Zellinnere zu bewerkstelligen. Die Regulation der Glucose-Eintritts-Rate wird durch ein 'Glucose-Transport-System' bewirkt, welches vermutlich in oder auf der Plasmamembran lokalisiert ist. (35,48,5,21,59). Die biochemische Natur des Glucose-Transport-Systems ist unbekannt; sein funktionelles Verhalten erlaubt aber die Annahme, daß es sich um enzymähnliche Materie handelt, die vorübergehend einen Komplex mit ihren spezifischen Substraten bildet. Demnach erfährt das Substratmolekül anstelle einer Umwandlung nur eine 'Translocierung'. In einigen Geweben (Hirn, Gastrointestinalmucosa, Nierentubuli, Erythrozyten u.a.) arbeitet das 'Glucose-Transport-System' in voller Kapazität, ob nun Insulin anwesend ist oder nicht. In anderen Geweben (Fettgewebe, Skelet- und Herzmuskel) sinkt die Aktivität ihrer Glucose-Transport-Systeme in Abwesenheit von

Insulin auf ein Minimum.(32,9,42).Insulin hebt in vivo und in vitro unmittelbar die Eintrittsrate der spezifischen Zucker. Man nimmt also an, daß in den insulin-sensitiven Zellen gewöhnlich eine Schranke besteht, die die Aktivität des Glucose-Transportsystems begrenzt, und daß es die Wirkung des Insulins ist, eine solche Schranke vorübergehend aufzuheben oder zu zerstören.(35) Dabei reagiert das Insulin aber nicht direkt mit dem Glucose-Transport-System, sondern mit einer Substanz, die irgendwie dessen Wirksamkeit verhindert. Zellen, die also trotz eines guten Glucose-Transport-Systems diese Schranke nicht besitzen, sind demnach nicht insulin-sensitiv. Man kann also sagen, daß Insulingabe, bzw. auch reaktiv bedingter Blutinsulinstieg den Zuckerturnover einmal in Richtung des Abbaus, zum ander in Richtung Glykogensynthese steigert, wobei unter bestimmten Bedingungen der glykogensynthetisierende Stoffwechselfad - über eine Aktivitätssteigerung des Glykogen-Synthetase-Systems - begünstigt wird. (35)

2. Ergebnisse der Glucose-Infusionen

Parenterale Applikation von Glucose (1g/kg/h) führt zu einem Blutglucoseanstieg und zu starker Insulinsekretion, wobei zur Beurteilung der Insulinsekretion immer eine Messung der aktuellen Seruminsulinspiegel vorgenommen wurde. Als sicher kann hingestellt werden, daß die Schlüsselposition zum Verständnis der beobachteten Stoffwechselveränderungen bei Glucoseinfusion in der Wechselbeziehung zwischen dem Blutglucoseanstieg und der reaktiven starken Insulinsekretion zu sehen ist.

Für die Beobachtung des Sturzes der FFS-Konzentrationen stehen zwei sich ergänzende Deutungsmöglichkeiten zur Verfügung: 1) Der erhöhte Glucoseanstieg und die daraus resultierende gesteigerte Verwertung führen zur Veränderung des Redoxpotentials mit vermehrter Glycerin- und ATP-Synthese. Dadurch kann eine beschleunigte Veresterung der FFS in der Leber stattfinden: Der Serum-FFS-Spiegel sinkt ab.(58)

2) Durch die Glucoseinfusion kommt es zu einem reaktiven Insulinanstieg. Das Insulin führt direkt zu einer unmittelbaren Reduzierung der Fettmobilisierung über eine Hemmung der Fettgewebslipase-Aktivität. (35)

Der ebenfalls beobachtete Abfall der Phosphatkonzentrationen im Serum findet seine Erklärung in der gesteigerten Aufnahme von Phosphor aus dem Serum zum Zweck der Phosphorylierung von Zwischenprodukten des Glucose-Abbaus und der vermehrten ATP-Synthese. Wie von anderer Stelle (64) mitgeteilt, kommt es durch Insulin zur Aufnahme von Kalium und Phosphor aus dem Serum, und zwar noch bevor es einen signifikanten Effekt für die Aufnahme von Glucose gibt. Möglicherweise ist ein erhöhter Phosphateinstrom in die Zelle eine direkte Wirkung des Insulins.

Weitgehend unbeeinflusst - im Gegensatz zu den anderen, bisher erörterten Metaboliten - bleibt das Glykogen: Ein Befund, der insofern Beachtung verdient, als er zeigt, daß das Blutglykogen durch Nahrungseinflüsse praktisch nicht verändert wird. Damit kann diese Stoffwechselgröße als ein offensichtlich nur von ganz bestimmten physiologischen oder pathologischen Zuständen abhängiger, und damit recht zuverlässiger, Parameter angesehen werden.

3. Ergebnisse der Fructose-Infusionen

Neben der Glucosewirkung waren schon früher die Stoffwechseleffekte andere Kohlenhydrate, und insbesondere deren β -zytotrope Wirkung, von Interesse. Grafe und Meythaler, die ihre Untersuchungen über die Wirkung von Hexosen, Pentosen, Di- und Polysacchariden sowie Zuckerderivaten mittels Infusionen in die Arteria pancreatica anstellten, glaubten aus ihren Beobachtungen den Schluß ziehen zu können, nur solche Stoffe würden die Insulinsekretion stimulieren, die bei gleichzeitiger Anwesenheit einer intakten Aldehyd- oder Ketogruppe reduzierend wirkten. (15) Neueren Erkenntnissen hält diese Theorie allerdings nicht stand; ja, es ist bisher überhaupt nicht gelungen, einen gemeinsamen Nenner für die β -zytotropen Eigenschaften der

Zucker auszumachen.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die ersten Versuche zur Klärung der Frage, ob die Fructose insulin-stimulierend wirkt oder nicht. (Aus: Handbuch des Diabetes mellitus, modifiziert nach E.F. Pfeiffer und R. Ziegler)

Übersicht über die Wirkung der Zucker Glucose u. Fructose auf die Insulinsekretion im Tierversuch

Autoren	Stimuliertes Pankreas	Insulinbestimmg.	Glu	Fru
Grafe und Meythaler (1927/28)	Hund (intakt)	indirekt am Versuchstier	+	
London u. Kotschneff (1937)	Hund (Pankreas-vene drainiert)	Maus	+	
Pozza et al. (1959)	Spenderhund	Empfängerhund (Kreuztransfusion)	+	Ø
Berson et al. (1959)	Kaninchen	Immunoassay	+	Ø
Grodsky et al. (1963)	Hund (Pankreas-vene drainiert)	Immunoassay	+	+
Boda (1964)	Schaf (intakt)	Immunoassay	+	Ø (+ via Glu?)
Sussmann et al. (1966)	Ratte (isoliert)	Immunoassay	+	+

Die von Grodsky et al. erörterte Möglichkeit, Fructose liefere auf dem Weg über den glycolytischen oder oxydativen Abbau Glucosemetabolite, TPNH oder andere nötige Faktoren, verdient besonderes Interesse. Hier wird die Frage aufgeworfen, ob nicht dieses Substrat erst in den Langerhans'schen Inseln in Glucose umgewandelt würde, welche dann den Stimulus für die Insulinsekretion darstelle. (18) Beachtenswerte Aspekte zu diesem Problem eröffneten Untersuchungen an Kindern mit Glucose-6-Phos-

phatase-Mangel (23). Hier hatten Fructoseinfusionen ebenfalls einen Insulinanstieg zur Folge, obwohl wegen der enzymatischen Störung keine Glucose gebildet worden sein dürfte. Die Autoren vermuteten aber auch hier als Ursache für den Insulinanstieg eher einen Intermediär-Metaboliten als die Fructose selbst, da sie bei Fructoseinfusionen an Patienten mit Fructoseintoleranz keinen insulin-freisetzenden Effekt beobachten konnten.

In unseren Versuchen ließ sich kein nennenswerter Anstieg des Seruminsulins und der Blutglucose verzeichnen. Die Tatsache, daß Fructose vom Organismus doch weitgehend insulin-unabhängig verwertet wird, findet ihre Erklärung darin, daß Fructose in die Kette der glycolytischen Reaktionen an einer Stelle eintritt, wo das Insulin für den weiteren Umsatz nicht von Bedeutung ist.

Der Abbau der Fructose zu den C_3 -Bruchstücken vollzieht sich außerordentlich rasch, und zwar in erster Linie in der Leber, in der vier Enzyme von besonderer Bedeutung für den Fructose-Metabolismus sind (11):

- 1) Die Fructokinase bewerkstelligt die Phosphorylierung der Fructose in Position I.
- 2) Die 1-Phospho-Fructaldolase spaltet Fructose-1-Phosphat in Phosphodihydroxyaceton und Glycerinaldehyd.
- 3) Die Glycerinaldehyddehydrogenase bewirkt die Oxidation des Glycerinaldehyds zu Glycerinsäure.
- 4) Die Glycerinsäurekinase phosphoryliert diese Säure zu 2-Phosphoglycerinsäure.

In dem genannten Stoffwechselgeschehen gibt es mindestens drei Metabolite, die gewöhnlich im Glucosestoffwechsel nicht auftreten: Fructose-1-Phosphat, Glycerinaldehyd und Glycerinsäure.

Das wichtigste Organ für die Fructose-Verwertung ist zweifellos die Leber: Sie zeigt eine hohe Affinität ihrer Enzyme zur Fructose, wohingegen in den insulin-sensitiven Zellendes Muskels, Fettgewebes und Gehirns die Gegenwart von Glucose und deren hohe Affinität zur Hexokinase den

Fructose-Metabolismus verhindert. Eine unmittelbare Wirkung der Fructose auf den Glucose-Stoffwechsel, die von verschiedenen Autoren beschrieben (31,51,44,54) und von Strauß und Hiller (53) als Mitnahmeeffekt bezeichnet wurde, sollte darin bestehen, daß nach peroralen und i.v.-Gaben von Fructose der Glucosespiegel leicht absinkt. Man erklärte dieses Phänomen mit der Annahme, daß Fructose die Glucosefreisetzung aus der Leber hemmt. (60,12) In den eigenen Versuchen konnten wir jedoch eine Fructose-bedingte Hypoglykämie nicht feststellen.

Der Abfall der FFS und des Phosphats ist hingegen bei unseren Experimenten offensichtlich. Die gleiche Beobachtung machten wir bei der Glucose-Infusion und glauben, sie hier in gleicher Weise deuten zu dürfen. ⁺

Der nutzbringende Effekt der Fructose-Applikation bei allen Fällen mit gestörter Glucose-Utilisation (Diabetes, diabetischer Acidose, bei leberkranken Diabetikern, bei Zuckerkranken in der postoperativen Behandlung, sowie allgemein in katabolen und Stress-Zuständen) ist umso höher, je weniger Fructose für die Glucosebildung verwendet wird. (7) Das bedeutet: Je geringer der Betrag an verfügbarem Insulin, und je höher der Grad der Gluconeogenese, destoweniger kann Fructose insulin-unabhängig verwendet werden.

3. Ergebnisse der Xylit-Infusionen

Xylit, ein fünf-wertiger Zuckeralkohol mit der Bruttoformel $C_5H_{12}O_5$, muß auf Grund seiner Utilisation im Säugerorganismus und seines allgemeinen Verhaltens mehr zu den Zuckern als zu den Alkoholen gerechnet werden. Er kommt in der Natur in niederen und höheren Organismen vor. Wie Lang (8) im Tierexperiment nachweisen konnte, geht die Resorption von per os verabreichtem Xylit zwar langsam, dafür aber nahezu vollständig vor sich. Bei parenteraler Applikation fand er keinen Unterschied zu den Ergebnissen bei per os verabreichtem Xylit. (29) Bei Versuchen am Menschen berichtet

⁺) Da eine verstärkte Sekretion des körpereigenen Insulins entfällt, muß man hier der Veresterung der FFS in der Leber eine besondere Bedeutung beimessen.

Lang (1) über ganz ähnliche Ergebnisse. Sowohl bei diesen Versuchen als auch bei den tierexperimentellen wurden gelegentlich leichte Durchfälle beobachtet. Ansonsten ist aber der Xylit wegen seines stark süßen Geschmackes, der unerheblichen Beeinflussung des Blutzuckerspiegels und der antiketogenen Wirkung als Zuckeraustauschstoff besonders für Diabetiker hervorragend geeignet. (29) Da unmittelbar nach Infusion von 1 g Xylit pro kg Körpergewicht/30 min (39) der Blutxylitspiegel von gesunden Versuchspersonen im Durchschnitt 204 mg% betrug, errechnet sich daraus ein Verteilungsraum von 30 l, was ein rasches Eindringen des Xylit in die Zellen beweist. (27)

Ort des Xylitstoffwechsels ist hauptsächlich die Leber, wo der Xylit einen sehr raschen Umbau erfährt, weshalb seine Konzentration in den Zellen so ausgesprochen gering ist. Seit Touster (56) den Xylit als Glied des Glucuronsäure-Xylulose-Zyklus identifizieren konnte, ist er als Intermediärverbindung des Kohlenhydratstoffwechsels bekannt. Der Einbau des Xylit in den Stoffwechsel bewerkstelligen drei Enzyme (2,55,61):

- 1) eine TPN-abhängige, xylitspezifische Dehydrogenase, lokalisiert in den Mitochondrien, dehydriert den Xylit zu L-Xylulose,
- 2) eine DPN-DPNH-abhängige Xylitdehydrogenase dehydriert Xylit zu D-Xylulose. Sie kommt außer in den Mitochondrien auch noch im Zytoplasma vor und ist nicht streng xylitspezifisch.
- 3) ein weiteres Enzym, die in Leber- und Nierenzytoplasma nachgewiesene Sorbitdehydrogenase, metabolisiert den Xylit ebenfalls zu D-Xylulose.

Die von zwei japanischen Arbeitsgruppen, Hirata und Kuzuya (22,26), am Hund beobachteten signifikanten Blutglucosestürze nach Xylitinfusionen (0,4 g/kg) stehen im Widerspruch zu unseren Ergebnissen. Die Infusion von 1 g Xylit/kg/h hatte keine Änderung der Blutglucosewerte zur Folge.

Auch der von Kuzuyas Arbeitsgruppe mitgeteilte hohe Anstieg des Seruminsulins bei Hunden konnte in diesen Versuchen - sowie von anderen bereits früher (13) - nicht bestätigt werden. Während die japanischen Autoren übereinstimmend eine sehr starke Erhöhung des Seruminsulins festgestellt hatten, die den Insulinspiegel, der durch die selbe Menge Glucose bewirkt worden wäre, noch übertrifft, ließ sich bei unseren Versuchen lediglich ein mäßiger, wenn auch signifikanter Anstieg des Seruminsulins verzeichnen. Wenn die empfindliche Reaktion der β -Zellen des Hundepankreas auf Xylit auch nicht mit der wesentlich trägeren des gesunden jungen Menschen zu vergleichen ist, gilt es doch als eine - inzwischen auch von anderer Stelle (Mehnert, Förster et al. - noch unveröffentlicht) bestätigte Beobachtung, daß Xylit in hohen Konzentrationen (1,5 g/kg) einen fördernden Einfluß auf die Insulinsekretion besitzt.

Yasagata (63) und Mitarbeiter beobachteten ein leichtes Absinken der FFS 90 Minuten nach Beendigung der Xylitinfusionen, während wir einen wesentlich stärkeren Abfall der FFS bereits zu Beginn der Infusion feststellten. Dieser Befund, sowie das Absinken des anorganischen Phosphats entspricht den Ergebnissen der Glucose- und Fructose-Infusionen.

V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen von Langzeitinfusionen mit den Monosacchariden Glucose und Fructose sowie dem Zuckeralkohol Xylit auf den Stoffwechsel junger gesunder Menschen untersucht. Die Versuchspersonen erhielten nüchtern Infusionen von 1 g der jeweiligen Substanz/kg Körpergewicht/1h. Neben der quantitativen Erfassung des applizierten Kohlenhydrats im Blut wurden Messungen von Glucose, Seruminsulin, Phosphat, Glykogen und der freien Fettsäuren durchgeführt. Es wurde versucht, Zusammenhänge und Wechselbeziehungen zwischen Infusionssubstanz, Seruminsulin Spiegel und den anderen Metaboliten aufzuzeigen. Die beobachteten Stoffwechselreaktionen während der Glucoseinfusionen können als typisch bezeichnet werden: Parenterale Applikation von Glucose führt zu einer starken Insulinsekretion. Für das signifikante Absinken der FFS stehen zwei sich ergänzende Deutungsmöglichkeiten zur Verfügung: Der gesteigerte Glucosemetabolismus führt in der Leber zu Veränderungen des Redoxpotentials mit vermehrter Glycerin- und ATP-Synthese. Dadurch kommt es zu einer beschleunigten Veresterung der FFS und zu einem Abfall im Serum. Andererseits bewirkt Glucose einen Insulinanstieg, wodurch ein reduzierender Effekt auf die Fettmobilisierung über eine Hemmung der Fettgewebslipase-Aktivität möglich ist. Außerdem kommt es zu einem Absinken der Phosphatkonzentration als Folge der vermehrten Phosphorylierung von Zwischenprodukten des Glucose-Abbaus und wegen der erhöhten ATP-Synthese. Unbeeinflusst bleibt das Glykogen: Dies ist insofern ein interessanter Befund, als er den Schluß zuläßt, daß das Blutglykogen durch physiologische Nahrungseinflüsse praktisch nicht verändert wird.

Während parenteraler Fructose-Verabreichung ließ sich ein nennenswerter Anstieg der Blutglucose und des Seruminsulins nicht verzeichnen, wohingegen - ähnlich wie bei der Glucoseinfusion - der Abfall der FFS und des Phosphats deutlich imponiert. Für den Abfall der freien Fettsäuren kommt im Gegensatz zu den Ergebnissen der Glucoseinfusion allerdings kein Anstieg des Seruminsulins in Betracht. Die Blutglykogenspiegel wurden unter Fructoseinfusion nicht verändert.

Infusionen von 1g Xylit/kg/h hatten keinen Anstieg der Blutglucosewerte zur Folge. Im Gegensatz zur Fructoseinfusion muß der zwar noch mäßige, aber doch signifikante Anstieg des Seruminsulins als eine gesicherte Beobachtung angesehen werden. Damit wurde erstmals eine Steigerung der Insulinsekretion durch Xylitininfusionen nachgewiesen. Das Verhalten der FFS und des Phosphats gleicht weitgehend dem bei Glucose- und Fructose-Infusionen. Wie bei den Glucose- und Fructoseinfusionen wurde auch nach Xylitapplikation keine signifikante Änderung der Glykogenkonzentration im Blut beobachtet.

VI. Literaturverzeichnis

- (1) Bässler, K.H., W. Prellwitz, V. Unbehauen, K. Lang:
Klin.Wschr. 40, 791 (1962)
- (2) Bässler, K.H.: Biochem. Zeitschrift 336, 35 (1962)
- (3) Berthet, J., Jacques, P., Hennemann, G., Duve, Ch.de:
Influences hormonales sur la synthèse de
glycogène hépatique in vitro.
Arch. internat. Physiol. 62, 282 (1954)
- (4) Brock, N., Hohorst, H.I., Schneider, B. und G. Siems:
Bestimmung der sauren und alkalischen
Seumphosphatasen als Routinemethode,
Arzneim.-Forsch. 14, 757 (1964)
- (5) Crane, R.K.: Physiol. Rev. 40, 789 (1960)
- (6) Duncombe, W.G.: The colorimetric micro-determination
of longchain fatty acids, Biochem.I. 88, 7
(1963)
- (7) Felber et al. aus: Mehnert H.: Vortrag Nashville 1968
- (8) Fingerhut, M., B.Schmid und K. Lang: zitiert in: Summa,
J.-D. Inauguraldissertation, München 1965
- (9) Fisher, R.B.a.D.B.Lindsay: J. Physiolog. 131, 526 (1956)
- (10) Förster, H., H.Mehnert: Comparative Measurement of
blood glycogen in women and man of different
age as well as in pregnant women and patients
with diabetes mellitus, VI. Internat. Con-
gress of clin.Chemistry, Munich 1966
- (11) Fritz, H., W.Lamprecht: Enzyme des Fructosestoffwech-
sels. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.
Bd. 348, S.1179-1182, Sept. 1967
- (12) Froesch, E.R., Prader, A., Wolf, H.P., Labhart, A.:
Die hereditäre Fructoseintoleranz.
Helvet. Paediatr. Acta 14, 99 (1959)
- (13) Geser, C.A., H. Förster, H. Pröls, H. Mehnert:
Zur Frage einer Wirkung von Xylit auf die
Insulinsekretion des Menschen
Klin. Wschr. 45, 16, S.351 (1967)

- (14) Grafe, E., F. Meythaler: Beiträge zur Kenntnis der Regulation der Insulinproduktion I. Der Traubenzucker als Hormon für die Insulingabe. Naunyn-Schmiedebergers Arch. Exp. Path. Pharmac. 125, 181-192 (1927)
- (15) Grafe, E., F. Meythaler: Beiträge zur Kenntnis der Regulation der Insulinproduktion, II. Mitteilung: Die Wirkung von Kohlenhydraten (außer Traubenzucker) auf die Insulingabe. Naunyn-Schmiedebergers Arch. Exp. Path. Pharmac. 131, 80 (1928 a)
- Grafe, E., F. Meythaler: Beiträge zur Kenntnis der Regulation der Insulinproduktion, III. Mitteilung: Die Wirkung von Anhydrokohlenhydraten, Zuckerderivaten und Zuckerspaltungsprodukten. Naunyn-Schmiedebergers Arch. Exp. Path. Pharmac. 136, 360 (1928 b)
- (16) Grimminger, H., E. Kallee, Tübingen
Abbau von Insulin, aus: Handbuch des Diab. mell. Bd. I. S. 257-269
- (17) Grodsky, G.M., Forsham, P.H.: J. clin. Invest. 39, 1070 (1960)
- (18) Grodsky, G.M., A.A. Batts, L.L. Bennett, C. Vcella, N.B. McWilliams, D.F. Smith: Effect of Carbohydrates on Secretion of Insulin from Isolated Rat Pancreas. J. Physiol. (Lond.) 205, 638-44 (1963)
- Grodsky, G.M., L.L. Bennett: Insulin Secretion from the Isolated Pancreas in Absence of Insulinogenesis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114, 769 (1963)
- (19) Hales, C.N., P.I. Randle, Lancet, i. 200, 1963 Biochem. J. 88, 137, 1963
- (20) Haury, H. Die Bestimmung des anorganischen Phosphors im Serum und Urin, in Vorbereitung
- (21) Hechter, O. a. G. Lester: Rec. Prog. Hormone Res. 16, 139 (1969)

- (22) Hirata, Y., M. Fujisawa, H. Sato, T. Asano, S. Katsuki:
Blood glucose and plasma insulin responses to
xylitol administered intravenously in dogs.
Biochem. biophys. Res. Commun. 24, 471, (1966)
- (23) Hug, George, M.D. and W.K. Schubert, M.D., Cincinnati
Diabetes 16: 791-95, Nov. 1956
- (24) Hugget, A.St.G., D.A.Nixon: Enzymic determination of
blood glucose. Biochem. J. 66, 12 (1957)
- (25) Hvid, A. and K. Linderstrøm-Lang: Deuterium Exchange of
Short Peptides. Sangers. A-Chain and Insulin.
Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg, Sér. Chim.
29, 367 (1955)
- (26) Kuzuya, T., Y. Kanazawa, K. Kosaka: Plasma Insulin
Response to intravenously administered Xylitol
in Dogs. Metabolism 15, 1149 (1966)
- (27) Lang, K., Mehnert, H., Summa J.-D. aus: Mehnert: Vortrag in
Nashville, USA. (1968)
- (28) Lang, K., Medizin und Ernährung 2/1963, 45
- (29) Lang, K., Medizin und Ernährung 2/1963, Tab.12, S.15
- (30) Lang, K., R. Frey, M. Halmágyi, Münchener Med. Wochr.
108/1966, Nr.43, S.5/7
- (31) Leubner, H., F. Gabel: Grundlagen und Wirkungsweise der
Lävulose-therapie.- Wien, Zschr. inn. Med. 29,
545 (1948)
- (32) Levine, R., M.S. Goldstein: Rec. Prog. Hormone Res. 11,
343, (1955)
Levine, R., M.S. Goldstein, B. Huddleston, S. Klein:
Amer. J. Physiol.-163, 70 (1950)
- (33) Levine, R. : Diabetes 10, 421 (1961)
- (34) Levine, R. : Amer. J. Med. 31, 901 (1961)
- (35) Levine, R. : The Place of Insulin and Glucagon in the
Regulation of Carbohydrate Metabolism, ersch. in:
D-Glucose und verwandte Verbindungen in Medizin
und Biologie, Ferd. Enke Verlag Stuttgart 1966.
- (36) Meade, R.J., Klitgaard, H.H.J. nuclear Med. 3, 407, 1962

- (37) Mehnert, H., Stuhlfaut, K., Mehnert, B., Lausch, R.
Hoeflmayr, A.: Vergleichende Untersuchungen
zur Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit
beim Menschen.- Klin. Wschr. 37, 1138 (1959)
- (38) Mehnert, H.: Vortrag in Nashville, USA, Internationales
Ernährungs-Symposium, April 1968
- (39) Mehnert, H.: Klin. Wschr. 42, 382 (1964)
- (40) Mehnert, H., Summa, J.-D., Förster, H.:
Untersuchungen zum Xylitstoffwechsel bei
gesunden, leberkranken und diabetischen Versuchs-
personen. Klin. Wschr. 42, 382 (1964)
- (41) Morgan, C.R., Lazarow, A., Diabetes, 12, 115, 1963; und
Diabetes, 13, 579, 1964
- (42) Park, C.R., L.H. Johnson, J.H. Wright jr., H. Batsel:
Amer.J. Physiol. 191, 13 (1957)
- (43) Pflüger, E.: Über die Fähigkeit der Leber, die Circular-
polarisation zugeführter Zuckerstoffe umzukehren.
Pflügers Arch. Physiol. 121, 559 (1907)
- (44) Pletscher, A., Fahrlander, H., Staub, H.:
Fructoseumsatz bei Gesunden, Diabetikern und
Leberkranken.- Helvet. physiol. pharmakol. acta
9, 46 (1951)
- (45) Pollak, L.: Physiologie und Pathologie der Blutzucker-
regulation. Ihre Bedeutung für die Pathogenese
des Diabetes mellitus. Zusammenf. Ergebn. d.
Inn. Med. u. Kinderheilkde 23, 337-446 (1923)
- (46) Pröls, H.G., Untersuchungen zur Resorption freier Fettsäuren,
Dissertation, München 1966
- (47) Rein, H., M. Schneider: Physiologie des Menschen, 15. Aufl.
1964, S. 367
- (48) Ross, E.J.: Medicine 35, 355 (1956)
- (49) Schindera, J.: Vergleichende Blutglykogenbestimmungen bei
Männern und Frauen versch. Alters, sowie bei
Schwangeren und Diabetikern. Inaugural-Dissertation
München (1966)
- (50) Schmidt, F.H.: Die enzymatische Bestimmung von Glucose
und Fructose nebeneinander.- Klin. Wschr. 39,
1244 (1961)

- (51) Siedek, H., Burian, K., Mylivec, O.:
Die therapeutische Bedeutung der Lävulose.-
Wien, klin. Wschr. 59, 842 (1947)
- (52) Slein, M.W., Cori, G.T., Cori, C.F.:
A comparative Study of hexokinase from yeast
and animal tissues.- J. Biol. Chemistry
186, 763 (1950)
- (53) Strauss, E., Hiller, J.: Über den Einfluß der Fructose
auf den Blutglucosespiegel des Diabetikers.-
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 228 (1951)
- (54) Stuhlfauth, H.: Besonderheiten des Lävulosestoffwechsels.-
Ärztl. Forschg., Würzburg 5, 414 (1951)
- (55) Touster O.: Fed. Proc. 19, 977 (1961) und:
D.R.D.Shaw Phys. Rev.42, 181 (1962)
- (56) Touster, O. et al.: J. Biol. Chem. 221, 667 (1956)
- (57) West, C., S. Rappoport: Med. Biol. 70, 141 (1949)
- (58) Wieland, O.: Wechselbeziehungen zwischen Kohlenhydrat-
und Fettstoffwechsel und ihre Störungen. In:
S. Colloquium der ges. Physiol. Chemie.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958,
S. 86
- (59) Wilbrandt, W.: In: Funktionelle und morphologische Or-
ganisation der Zelle, S.219, Springer,
Berlin 1963.
- (60) Wolf, H.P.: Biochemische Untersuchungen zur hereditären
Fructoseintoleranz.-
Med. Probl. Pädiatr. 4, 528 (1959)
- (61) Wynngaarden, J.B., S. Segal, J.B. Foley:
J. Clin. Invest. 36, 1395 (1961)
- (62) Yalow, R.S., Bergson, S.A.: J. Clin. Invest. 39, 1157, (1960)
- (63) Yamagata, S.: Clinical Effects of Xylitol on Carbohydrate
and Lipid metabolism in Diabetes.-
The Lancet Nov. 6, 1965, S.918-921
- (64) Zollinger, H.U.: Pathologische Anatomie I. Bd., S.40,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968.

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. H. Mehnert auf das herzlichste bedanken für die Überlassung des Themas sowie für seine großzügige Hilfe bei der Ausarbeitung. Danken möchte ich auch Herrn Dr. C. A. Geser für seine Anleitung zur technischen Durchführung der Insulinbestimmungen. Ferner sei dankend erwähnt die kameradschaftliche Zusammenarbeit mit Herrn Karl Zinkl in all den Monaten der Laborarbeit.

LEBENS LAUF

Günther Josef Zimmermann, geb. am 30. Januar 1944 in Hengersberg, Niederbayern.

Eltern: Franz und Anna Zimmermann, geb. Weinberger.

Volksschule: Hengersberg.

Juli 1963: Abitur am Deutschen Gymnasium Niederaltaich.

2 Semester Philosophie und Psychologie in Passau und München.

Seit Wintersemester 1964/65 Medizinstudium an der Universität München.

Juli 1967: ^uÄrztliche Vorprüfung.

7. September - 21. Dezember 1970: Medizinisches Staatsexamen.

Termin der mündlichen Prüfung: 22. Dezember 1970

